

AUS DEN MEDIZINISCHEN KLINIKEN UND POLIKLINIKEN
DER JUSTUS LIEBIG-UNIVERSITÄT GIESSEN

Direktoren: Prof. Dr. H.J. Dengler
Prof. Dr. H.G. Lasch

**Untersuchungen zur Gallesekretion bei
der Anit-Cholestase der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
Ingo Mahn
aus Giessen

1 9 7 1

AUS DEN MEDIZINISCHEN KLINIKEN UND POLIKLINIKEN
DER JUSTUS LIEBIG-UNIVERSITÄT GIESSEN

Direktoren: Prof. Dr. H.J. Dengler
Prof. Dr. H.G. Lasch

Untersuchungen zur Gallesekretion bei der Anit-Cholestase der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
Ingo Mahn
aus Giessen

1 9 7 1



Dekan: Prof. Dr. H.G. Lasch

Referent: Prof. Dr. H.A. Kühn

Correferent: Prof. Dr. H.G. Lasch

I N H A L T S A N G A B E
=====

I. Einleitung	Seite 2
II. Abkürzungen	Seite 4
III. Material	Seite 5
IV. Methoden	Seite 7
V. Ergebnisse	Seite 17
VI. Diskussion	Seite 33
VII. Zusammenfassung	Seite 37
VIII. Literaturangaben	Seite 38
IX. Lebenslauf	Seite 42

I. EINLEITUNG

=====

In früheren Untersuchungen aus diesem Labor konnte gezeigt werden, daß bei menschlicher und tierischer Cholestase ein vermehrter Einbau von radioaktiv markierten Aminosäuren in das Leberprotein nachzuweisen ist. Gleichzeitig kommt es dabei zu einem Anstieg des relativen Lebergewichts und des Leberproteingehaltes. Es besteht somit kein Zweifel, daß im Verlauf der Cholestase eine verstärkte Proteinsynthese in der Leber erfolgt.

(5,7,9,12,13,17,21)

Bei Ratten mit ANIT-Cholestase konnte nachgewiesen werden, daß die Vorbehandlung der Tiere mit Phenobarbital zu einer deutlichen Steigerung der Proteinsynthese in der Leber und zu einer Verstärkung der Cholestase, gemessen an den Leberfunktionsproben im Serum, führt. Die gleichzeitige Behandlung mit Actidion während der ANIT-Cholestase zeigte hingegen eine Verminderung der Proteinsynthese in der Leber und eine merkliche Abschwächung der Cholestase, gemessen an den Leberfunktionsproben im Serum.

(1,4,5,19,20)

Eine der wesentlichen Parameter im Serum zur Aktivitätsbeurteilung der vorliegenden Cholestase war dabei die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum.

Im allgemeinen gehen die Vorstellungen dahin, daß dieses Enzym bei der Cholestase nicht mehr in gleichem Maße durch die Galle ausgeschieden werden kann und deshalb im Serum erhöht vorgefunden wird.

(6,9,10)

In Untersuchungen an Ratten und Kaninchen mit experimenteller Cholestase konnte BERT (1) dagegen nachweisen, daß es unter Cholestasebedingungen zu einem deutlichen Anstieg der Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Leber und im Serum der Versuchstiere kommt, wobei neue Banden der alkalischen Phosphatase bei der elektrophoretischen Auftrennung sowohl im Serum als auch im Leberhomogenat auftreten, die durch gleichzeitige Behandlung der Tiere mit Proteininhibitoren teilweise unterdrückt werden konnten.

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, in wie weit bei der ANIT-Cholestase der Ratte die Gallesekretion und die Ausscheidung der alkalischen Phosphatase durch die Galle beeinträchtigt wird und ob durch die gleichzeitige Behandlung der Versuchstiere mit Actidion nicht eine verstärkte Choleresese induziert würde, die die Normalisierung der Leberfunktionsproben im Serum durch eine vermehrte Ausscheidung von alkalischer Phosphatase in die Galle erklären könnte.

II. A B K Ü R Z U N G E N

=====

AP	:	alkalische Phosphatase
KG	:	Körpergewicht
LFG	:	Leberfeuchtgewicht
E	:	Extinktion
GB	:	Gesamtbilirubin
i.p.	:	intraperitoneal
mU	:	Milli - Unit

III. M A T E R I A L
=====

Tiere	männliche Albinoratten (ca 400g) vom Stamm FW 49 der Firma Dr. Karl Thomae, Biberach an der Riss
Tiernahrung	Standarddiät der Firma Altromin und Leitungswasser ad libitum
ANIT	alpha-naphthyl-iso-thiocyanat EGA - Chemie KG, Steinheim/Albuch
Actidion R	Cycloheximid Serva Entwicklungslabor, Heidelberg
Nembutal R	Pentobarbital-Natrium 50 mg/ml Deutsche Abbott GmbH, Ingelheim/Rhein
Decholin R 20 %	Dehydrocholsäure, mit physiologischer Kochsalzlösung auf 5 % verdünnt Casella-Riedel Pharma GmbH, Frankfurt a.M.
Heparin Vitrum	5000 IE/ml Deutsche Kabi GmbH München
TRIS - Puffer	nach Geigy - Tabelle

Bilirubin Farb-Test Biochemica Test Combination

Boehringer Mannheim GmbH; Nr.15944 TBAA

Cholesterin Farb-Test Biochemica Test Combination

Boehringer Mannheim GmbH; Nr. 15949 TCAA

Alkalische Phosphatase Kinetischer Test; Merckotest

E. Merck AG, Darmstadt; Nr. 3314

Proteinstandard Lab Trol (Human crystallized Albumin)

DADE Cat. No B 5158, Inc. Miami Florida

Venenkatheter BARD - DAVOL LTD. Clacton on Sea,

England; Nr. 1819, Nr. 1814

IV. M E T H O D E N

=====

Die Untersuchungen wurden an männlichen Albinoratten von ca 400 g Gewicht durchgeführt, die mit der Standarddiät der Firma Altromin und Leitungswasser ad libitum ernährt wurden. Zur Ausbildung einer intrahepatischen Cholestase wurde den Tieren eine einmalige Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht ANIT gelöst in 1 ml Olivenöl per Schlundsonde gegeben. Die Kontrolltiere erhielten ebenfalls 1 ml Olivenöl per Schlundsonde.

1. Gallensekret durch Duodenalkatheter:

Bei sechs Ratten 48 Stunden nach Gabe von ANIT und sechs Kontrolltieren wurde Galle durch Anlegen eines Duodenalkatheters gewonnen. Das Sekret wurde im Dunkeln in viertelstündigen Fraktionen aufgefangen und die Konzentration von Bilirubin, Cholesterin und alkalischer Phosphatase gemessen. Bei den Tieren mit ANIT-Cholestase wurde die Galle wegen des geringen Sekretflusses in halbstündigen Fraktionen gesammelt und nur die Konzentration der alkalischen Phosphatase bestimmt.

Jeweils drei Tiere erhielten eine Stunde nach konstantem Gallenfluß eine Injektion von 0,8 mg/kg Körpergewicht Actidion gelöst in 1 ml physiolo-

gischer Kochsalzlösung in die eröffnete Bauchhöhle. Der Sekretfluß wurde weitethin unter den gleichen Bedingungen gemessen und auf die angeführten Substanzen hin untersucht. Nach zwei- bis dreistündigem Versuchsverlauf wurden die Tiere herzpunktiert und anschließend getötet. In den Seren wurde ebenfalls die Konzentration von Bilirubin, Cholesterin und alkalischer Phosphatase bestimmt.

Operationsmethode:

Die Narkose der Tiere erfolgte durch eine intraperitoneale Injektion von 1 ml/kg Körpergewicht Nembutal. Danach wurde das Bauchfell rasiert und das Abdomen in der Linea alba ungefähr 4 cm weit eröffnet. Im rechten Oberbauch unterhalb des linken Leberlappens wurde das Duodenum aufgesucht und hervorgezogen, im Mesenterium zeigt sich dann der Verlauf des Ductus choledochus von der Leberpforte zum Duodenum. Das Duodenum wurde unter Erhaltung der Gefäßversorgung distal vom Pylorus abgebunden und ca 2 cm unterhalb der Einmündung des Gallenganges durchtrennt. Aus dem proximalen Duodenalstumpf wurde das Gallensekret über einen flexiblen Venenkatheter abgeleitet. In den distalen Darmteil wurde zur Aufrechterhaltung eines enterohepatischen Gallensäurekreislaufs gleichmäßig 4,5 ml/h 5%ige Decholinlösung infundiert.

2. Perfusion eines Duodenalabschnitts:

Bei vier Ratten mit klinisch manifester Cholestase, 48 Stunden nach einmaliger oraler Applikation von ANIT, wurde ein ca 4 cm langer Duodenalabschnitt mit Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 1ml/15' perfundiert und die Konzentration und die Gesamtausscheidung von alkalischer Phosphatase in viertelstündigen Fraktionen zwei Stunden lang gemessen. Als Kontrollen dienten die gleichen Untersuchungen an vier Normaltieren.

Die Ratten wurden ebenfalls mit Nembutal narkotisiert. Die Operation zur Freilegung des Gallenganges erfolgte in gleicher Weise wie bei der vorangegangenen Versuchsreihe. Nach Ligatur des Ductus choledochus wurde das Duodenum ca 2 cm ober- und unterhalb der Papilla Vateri unter Erhaltung der Gefäßversorgung durchtrennt und mit Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer perfundiert. Der Darmstumpf am Magenausgang wurde durch eine doppelte Ligatur verschlossen. In den abführenden Darmschenkel wurde ein Venenkatheter zur Infusion von 5 %iger Decholinlösung (4,5 ml/h) eingebunden. Zuletzt wurde in den Gallengang eine dünne Kanüle eingeführt, um einen Gallenrückstau in die Leber zu vermeiden. Nach zweistündigem Versuchsverlauf wurden die Tiere getötet.

3. Gallensekret durch direkte Choledochuskanülierung:

Bei jeweils vier Tieren wurde 12, 24 und 48 Stunden nach einmaliger oraler Applikation von ANIT Galle in viertel-, halb- und einstündigen Fraktionen durch direkte Choledochuskanülierung gewonnen. Die veränderten Zeitintervalle ergaben sich aus der Verringerung des Sekretflusses der Tiere mit länger bestehender ANIT-Cholestase. Alle Tiere erhielten nach zweistündigem konstanten Gallenfluß eine Injektion von 0,8 mg/kg Körpergewicht Actidion, gelöst in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung, in die eröffnete Bauchhöhle. Danach wurde der Sekretfluß für eine weitere Stunde gemessen. Im Gallensekret wurde die Konzentration der alkalischen Phosphatase und-soweit die Sekretmenge ausreichte- auch die Konzentration von Bilirubin und Cholesterin bestimmt. Als Kontrollen dienten die gleichen Untersuchungen an vier Normaltieren.

Narkose und Operation zur Freilegung des Gallenganges erfolgte in gleicher Weise wie vorher. Der Ductus choledochus wurde nahe der Einmündung in das Duodenum abgebunden. Zur Infusion von 4,5 ml/h 5 %iger Decholinlösung wurde ein Venenkatheter in den Dünndarm eingelegt und fixiert. Nach Eröffnung des Ductus choledochus mit Hilfe

einer Kanüle konnte durch diese ein sehr dünner Venenkatheter im Lumen des Gallenganges bis zur Leberpforte vorgeschoben werden.

4. Leberhomogenat:

Nach Narkose der Versuchstiere mit Äther wurden bei sechs Ratten 48 Stunden nach oraler Applikation von ANIT und sechs Kontrolltieren die Leber extirpiert, in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend gewogen. Vom rechten Leberlappen wurden 2 g dünne Gewebsscheiben in feuchtem Zustand in 10 ml 0,2 M TRIS-Puffer (mit 0,2 N HCl auf pH 9,8) eingewogen und mit einem Potter-Elvehjem-Gerät zwei Minuten lang bei 4°C homogenisiert. Die Homogenate wurden 20 Minuten lang bei einer Temperatur von 2°C mit 15000 Umdrehungen/min (15000 g) zentrifugiert. In den Überständen wurden die Konzentrationen von Bilirubin, Cholesterin, alkalischer Phosphatase und des Gesamtproteins gemessen.

5. Klinisch chemische Methoden:

Bestimmung der Konzentration von Bilirubin,
Cholesterin, alkalischer Phosphatase und des
Proteins in Galle, Serum und Homogenatüberstand

a) Gesamt-Bilirubin:

In die Reagenzgläser wurde wie folgt pipettiert:

<u>Leerwert</u>	<u>Probe</u>	
0,25 ml	0,25 ml	0,029 M Sulfanilsäure; 0,17 N HCl
-	1 Tropfen	0,025 M NaNO_2
1,0 ml	1,0 ml	0,077 M Coffein-Natriumbenzoat
0,25 ml	0,25 ml	Serum oder Homogenatüberstand ⁺⁾

mischen, 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen.

1,0 ml	1,0 ml	0,93 M Tartrat; 1,9 N NaOH
--------	--------	----------------------------

mischen, 5 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen.

Die Proben wurden in Glas-Küvetten von 1 cm Schicht-
dicke bei 30°C im Photometer mit einer Wellenlänge
von 578 nm gegen den Leerwert gemessen.

Zur Errechnung der Konzentration wird die Extinktion
in folgende Formel eingesetzt:

$$E_{GB} \times 9,0 = \text{mg \% Gesamt-Bilirubin}$$

⁺⁾ Zur Bestimmung des Gesamt-Bilirubins in der Galle
wurden jeweils 0,1 ml Sekret und 1,15 ml Coffein-
Natriumbenzoat in Probe und Leerwert eingesetzt.

$$E_{GB} \times 45 = \text{mg \% Gesamt-Bilirubin}$$

b) Cholesterin:

In die Reagenzgläser wurde wie folgt pipettiert:

<u>Leerwert</u>	<u>Standard</u>	<u>Probe</u>	
0,1 ml	-	-	destilliertes Wasser
-	0,1 ml	-	200 mg % Cholesterin in Eisessig
-	-	0,1 ml	Serum, Galle oder Homogenatüberstand
2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml	0,05 M Dimethylbenzol- sulfonsäure; 7,0 M Essigsäure; 6,5 M Essigsäureanhydrid

mischen, 5 Minuten im Wasserbad von 20 - 25°C
stehen lassen

0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	Schwefelsäure (95 - 97%)
--------	--------	--------	--------------------------

mischen, für weitere 10 Minuten im Wasserbad
stehen lassen

Die Proben wurden in Glas-Küvetten von 1 cm
Schichtdicke bei 30°C im Photometer mit einer
Wellenlänge von 578 nm gegen den Leerwert ge-
messen.

Zur Errechnung der Konzentration werden die Ex-
tinktionen in folgende Formel eingesetzt:

$$\frac{E_{\text{Probe}}}{E_{\text{Standard}}} \times 200 = \text{mg \% Cholesterin}$$

c) Proteinkonzentration im Homogenatüberstand

Biuret Methode:

In die Reagenzgläser wurde wie folgt pipettiert:

<u>Leerwert</u>	<u>Standard</u>	<u>Probe</u>	
0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	HCOOH
-	0,1 ml ^Δ	-	Lab Trol (7,05 g %)
-	-	0,1 ml	Homogenatüberstand
4,9 ml	4,8 ml	4,8 ml	1 N NaOH
5,0 ml	5,0 ml	5,0 ml	Biuret-Reagenz

30 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen.

Anschließend wurden Proben und Standard in Glas-Küvetten von 2 cm Schichtdicke bei 30°C im Photometer mit einer Wellenlänge von 546nm gegen den Leerwert gemessen.

Zur Errechnung der Konzentration werden die Extinktionen in folgende Formel eingesetzt:

$$\frac{E_{\text{Probe}}}{E_{\text{Standard}}} \times 7,05 = \text{g \% Protein}$$

d) Alkalische Phosphatase; Kinetischer Test:

In Glas-Küvetten von 1 cm Schichtdicke wurden

2,0 ml Puffer-Substratlösung von 30°C

(1,0 M Diäthanolamin - HCl pH 9,8; 5×10^{-4} M MgCl_2 ;

$1,5 \times 10^{-2}$ M p-Nitrophenylphosphat)

und 0,02 ml Serum bzw. Galle oder Homogenat-
überstand pipettiert, gut gemischt und nach
etwa 1 Minute die Extinktion mit dem Photometer
bei einer Wellenlänge von 405 nm 3 Minuten lang
gemessen. Zur Errechnung der Konzentration wird
die Extinktionsdifferenz pro Minute E_{405} in
folgende Formel eingesetzt:

$$E_{405} \times 5460 = \text{mU/ml}$$

6. Berechnung der Mittelwerte, Standardabweichungen
und Signifikanzen:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum x^2 - \bar{x} \sum x}{n - 1}}$$

n - Anzahl der untersuchten
Fraktionen

$\sum x$ - Summe der Einzelwerte

$\bar{x}$ - Mittelwert

s - Standardabweichungen der
Mittelwerte

$\sum x^2$ - Summe der Quadrate der
Einzelwerte

Verteilung nach STUDENT (t - Verteilung)

$$s_d = \sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}$$

Die beiden zu vergleichenden Kollektive werden mit den Indices 1 und 2 bezeichnet.

s_d - Standardabweichung der Differenz der zwei Kollektive

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_d}$$

t - Standard-Norm-Variable

Die Signifikanzen p lassen sich aus der t-Tabelle unter Berücksichtigung des Stichproben-Umfangs ($n_1 + n_2 - 2$) ablesen.

V. E R G E B N I S S E

=====

In einer ersten Untersuchungsreihe wurde die Gallenausscheidung und die Ausscheidung der alkalischen Phosphatase an Ratten mit ANIT-Cholestase (100 mg/kg Körpergewicht) in einer technisch einfachen Versuchsanordnung geprüft.

Dabei wurde wie folgt vorgegangen:

Den Versuchstieren wurde am Pylorus unter Erhaltung der Gefäßversorgung eine Ligatur um den Darm gelegt und zwei Zentimeter unterhalb der Einmündung des Ductus choledochus ein flexibler Venenkatheter in das Duodenum eingebunden und während der Untersuchungszeit das gesamte Duodenalsekret aufgefangen. Um einen entero-hepatischen Gallensäurekreislauf wenigstens annähernd aufrecht zu erhalten, wurde 4,5 ml/h Decholin 5 % in den Darm infundiert, damit ließ sich über vier Stunden ein konstanter Gallenfluß aufrecht erhalten. Diese Versuchsanordnung zur Gallengewinnung ähnelt in etwa dem, wenn beim Menschen versucht wird durch Duodenalsonde Galle zu gewinnen.

Wie Tabelle 1 zeigt, ist in einer solchen Versuchsanordnung eine deutlich verminderte Sekretmenge bei Tieren mit ANIT-Cholestase festzustellen. Dagegen ist die Totalausscheidung von alkalischer Phosphatase

nicht wesentlich vermindert, was dadurch hervorgerufen wird, daß ein bezüglich der alkalischen Phosphatase wesentlich konzentrierteres Duodenalsekret bei der experimentellen Cholestase nachzuweisen ist.

Wird unter diesen Untersuchungsbedingungen im Vergleich zu einem unbehandelten Kontrollkollektiv der Einfluß von Actidion auf die Gallenausscheidung und die alkalische Phosphatase, entsprechend der in der Einleitung skizzierten Fragestellung, untersucht, so zeigt sich zunächst, daß dieser Proteinsynthesehemmer die ausgeschiedene Sekretmenge nicht verändert, auch werden unter diesen Untersuchungsbedingungen nicht mehr Bilirubin und Cholesterin in die Galle ausgeschieden (Tabelle 2). Das ist insofern wichtig, als bei Actidiongabe die Bilirubin- und Cholesterinkonzentration im Serum bei Ratten mit ANIT-Cholestase abgeschwächt werden konnte. Dieser Phänomen ist also kaum auf eine vermehrte Ausscheidung von Bilirubin und Cholesterin in die Galle zurückzuführen. Dagegen wurde unter diesen Untersuchungsbedingungen deutlich mehr alkalische Phosphatase in das Duodenalsekret ausgeschieden, was zunächst darauf hinweisen könnte, daß die Erniedrigung von alkalischer Phosphatase im Serum nach Actidiongabe durch die verstärkte Ausscheidung von alkalischer Phosphatase in die Galle bedingt sein könnte.

a) Galle durch Duodenalkatheter aufgefangen:

Tab. 1 Duodenalgalle und Konzentration von AP
48 Stunden nach Gabe von 100 mg/kg KG ANIT
oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv

	n	Galle ml/15'	alk. Phosphatase mU/ml mU/15'	
Kontrolle	22	1,03 ± 0,24	709 ± 220	716 ± 245
ANIT _{48 h}	17	0,072 ± 0,036	7872 ± 3801	520 ± 282
p		< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005

Tab. 2 Duodenalgalle, Bilirubin, Cholesterin und AP
in der ersten Stunde nach Gabe von 0,8 mg/kg KG
Actidion i.p. im Vergleich zu einem Kontroll-
kollektiv

	n	Galle ml/15'	Bilirubin mg % mg/15'		Cholesterin mg % mg/15'		Alk. Phosphatase mU/ml mU/15'	
Kontrolle	22	1,03 ± 0,24	0,21 ± 0,19	0,0022 ± 0,0021	28 ± 19	0,27 ± 0,14	709 ± 220	716 ± 245
Actidion 200 mg i.p.	8	1,07 ± 0,3	0,21 ± 0,23	0,0022 ± 0,0022	20 ± 3,7	0,22 ± 0,09	1633 ± 1055	1645 ± 943
p		> 0,3	∞	∞	> 0,05	> 0,1	< 0,0005	< 0,0005

Wie Tabelle 3 zeigt, läßt sich dies bei Tieren mit ANIT-Cholestase nicht nachweisen. Unter diesen Untersuchungsbedingungen wird weder vermehrt Galle noch vermehrt alkalische Phosphatase in das Duodenalsekret ausgeschieden.

Da bei dieser Versuchsanordnung keine reine Galle aufgefangen werden konnte, sondern die Konzentration der alkalischen Phosphatase auch durch Ausscheidung dieses Enzyms aus dem Pankreas oder der Darmschleimhaut geschehen sein konnte, wurde als nächstes untersucht, wieviel alkalische Phosphatase nur durch den Darm selbst ausgeschieden wurde. Deshalb wurde einem Tierkollektiv mit ANIT-Cholestase im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ein 4 cm langer Duodenalabschnitt unmittelbar unterhalb des Magens kanüliert, mit Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer perfundiert und nach der Passage wieder aufgefangen. Der Gallenzufluß war durch Choledochusligatur unterbunden. Die Perfusionsgeschwindigkeit betrug ca 1 ml/15', womit also etwa die normale Sekretmenge gewonnen wurde.

Überraschenderweise ergab sich, daß bei diesen Untersuchungsbedingungen, also ohne Gallenzufluß zum Darm, etwa die gleiche Menge alkalischer Phosphatase ausgeschieden wurde, was bedeuten würde, daß ein großer Teil der ausgeschiedenen alkalischen Phosphatase

entweder durch den Darm selbst sezerniert wird oder aus abgeschilferten Darmepithelien entstanden sein könnte.

Wie Tabelle 4 zeigt, bestehen zwischen den Kontroll- und den mit ANIT behandelten Tieren bezüglich der Ausscheidung von alkalischer Phosphatase durch den Darm keine wesentlichen Unterschiede.

Da unter den vorher gewählten Untersuchungsbedingungen die Ausscheidung von alkalischer Phosphatase in in die Galle nicht exakt geprüft werden konnte, wurde in einer zweiten Versuchsanordnung die Frage der Ausscheidung der alkalischen Phosphatase nochmals an einem Tierkollektiv überprüft, bei denen nunmehr statt des Duodenums direkt der Ductus choledochus kanüliert wurde.

Zunächst wurde der zeitliche Verlauf der Veränderung der Leberfunktionsproben im Serum 12, 24 und 48 Stunden nach Gabe von 100 mg/kg Körpergewicht ANIT oral überprüft. Wie Tabelle 5 zeigt, findet sich bereits nach 12 Stunden eine eindeutige Erhöhung des Serumbilirubinspiegels und der Konzentration der alkalischen Phosphatase im Serum, die im weiteren Verlauf noch mehr ansteigt. Eine deutliche Erhöhung der Cholesterinkonzentration im Serum ist erst nach 24 Stunden nachweisbar.

Tabelle 6 zeigt die dazugehörigen Signifikanzen.

Tab. 3 Duodenalgalle und AP in der ersten Stunde nach 0,8 mg/kg KG Actidion i.p. und 48 Stunden nach 100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich zu einem nur mit ANIT behandelten Kollektiv

	n	Galle ml/15'	Alk. Phosphatase mU/ml mU/15'	
ANIT _{48 h}	17	0,072 ±0,036	7872 ±3801	520 ±282
ANIT _{48 h} + Actidion	8	0,076 ±0,063	10127 ±7249	551 ±276
p		> 0,45	> 0,25	> 0,4

Tab. 4 Konzentration und Gesamtausscheidung von AP bei Volumen- und Zeitkonstanter Perfusion eines ca. 4 cm langen Duodenalabschnitts 48 Stunden nach 100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv

	n	Alk. Phosphatase mU/ml mU/15'	
Kontrolle	28	664 ±461	729 ±507
ANIT _{48 h}	18	491 ±579	540 ±637
p		> 0,1	> 0,1

Tab. 5 Leberfunktionsproben im Serum 12, 24 und 48 Stunden nach oraler Gabe von 100 mg/kg KG ANIT im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv

	n	Bilirubin mg %	Cholesterin mg %	Alk. Phosphatase mU/ml
Kontrolle	6	0,06 ±0,05	67,7 ±17,1	172 ±58
ANIT _{12 h}	6	0,58 ±0,3	58,6 ±12	378 ±130
ANIT _{24 h}	6	1,98 ±0,78	134 ±21	513 ±181
ANIT _{48 h}	6	4,2 ±0,6	95 ±20	702 ±133

Tab. 6 Signifikanztabelle zu Tab. 5

	p gegen Kontrolle		
	Bilirubin	Cholesterin	Alk. Phosphatase
ANIT _{12 h}	< 0,05	> 0,3	< 0,05
ANIT _{24 h}	< 0,005	< 0,005	< 0,005
ANIT _{48 h}	< 0,0005	< 0,025	< 0,0005

Wird unter diesen Untersuchungsbedingungen die Gallenausscheidung untersucht, so ist bereits 12 Stunden nach einmaliger oraler Applikation von ANIT eine deutliche Einschränkung der Gallesekretion nachweisbar. Wie Tabelle 7 weiterhin zeigt, bleiben die Konzentrationen von Bilirubin und Cholesterin unter diesen Versuchsbedingungen unverändert, sodaß schließlich auf Grund der verminderten Gallenausscheidung auch eine verminderte Bilirubin- und Cholesterinausscheidung resultiert. Dagegen steigt die Konzentration der alkalischen Phosphatase in der Galle bei ANIT-Cholestase deutlich an, sodaß insgesamt zu diesem frühen Zeitpunkt noch unverändert viel alkalische Phosphatase durch die Galle ausgeschieden wird. Die in Tabelle 5 beobachtete deutliche Erhöhung der alkalischen Phosphatase im Serum 12 Stunden nach oraler Gabe von ANIT kann also kaum durch eine zu diesem Zeitpunkt verminderte Ausscheidung der alkalischen Phosphatase hervorgerufen sein.

Nach 24 und 48 Stunden dagegen (Tabelle 8 u. 9) sistiert der Gallenfluß fast vollständig. Es wird praktisch keine alkalische Phosphatase mehr durch die Galle ausgeschieden. Auf Grund der geringen Sekretmenge war die fortlaufende Mitbestimmung von Bilirubin und Cholesterin nicht mehr möglich.

b) Galle durch Choledochuskatheter aufgefangen

Tab. 7 Gallenmenge sowie Konzentration und
Gesamtausscheidung von Bilirubin,
Cholesterin und AP 12 Stunden nach
100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich
zu einem Kontrollkollektiv

	n	Galle ml/15'	Bilirubin mg %	mg/15'	Cholesterin mg %	mg/15'	Alk. Phosphatase mU/ml	mU/15'
Kontrolle	25	0,83 ±0,31	1,3 ±0,7	0,0108 ±0,0078	23,3 ±8,8	0,19 ±0,1	78 ±30	59 ±23
ANIT _{12 h}	24	0,44 ±0,24	1,3 ±0,68	0,0068 ±0,0041	22,3 ±5,2	0,122 ±0,054	135 ±32	54,7 ±30
p		<0,0005	∞	<0,0125	>0,475	<0,0025	<0,0005	>0,25

Tab. 8 Gallenmenge sowie Konzentration und Gesamtausscheidung von AP 24 Stunden nach 100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv

	n	Galle μml/15'	Alk. Phosphatase mU/ml mU/15'	
Kontrolle	25	0,83 ±0,31	78 ±30	59 ±23
ANIT _{24 h}	8	0,025	90 ±10,5	2,25 ±0,26
p		< 0,0005	> 0,2	< 0,0005

Tab. 9 Gallenmenge sowie Konzentration und Gesamtausscheidung von AP 48 Stunden nach 100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv

	n	Galle ml/15'	Alk. Phosphatase mU/ml mU/15'	
Kontrolle	25	0,83 ±0,31	78 ±30	59 ±23
ANIT _{48 h}	8	0,01	80 ±35	0,8 ±0,35
p		< 0,0005	> 0,45	< 0,0005

In einer vorhergehenden Untersuchung war nachgewiesen worden, daß durch gleichzeitige Actidionbehandlung der Versuchstiere der normalerweise bei ANIT auftretende cholestatische Ikterus nahezu unterdrückt werden kann. Tabelle 10 zeigt diesen Befund anhand der Leberfunktionsproben im Serum (aus den Untersuchungen von GRÜN, 4).

Es war nunmehr zu fragen, ob die Unterdrückung dieses cholestatischen Ikterus durch eine vermehrte Ausscheidung der in Tabelle 10 aufgeführten Substanzen in die Galle ausgelöst worden sein könnte.

Untersucht man den Einfluß von Actidion zunächst auf die Gallenausscheidung bei Normaltieren, so zeigt Tabelle 11 daß möglicherweise ein solcher Mechanismus sowohl hinsichtlich der Gallenmenge als auch des Bilirubins und Cholesterins besteht. Die alkalische Phosphatase wird unter diesen Bedingungen nicht vermehrt ausgeschieden.

12 Stunden nach Applikation von ANIT und zusätzlicher Actidionbehandlung, werden, wie Tabelle 12 zeigt, gegenüber dem nur mit ANIT behandelten Tierkollektiv eine etwas größere Gallenmenge und vermehrt Cholesterin und alkalische Phosphatase ausgeschieden, wogegen die Bilirubinausscheidung vermindert ist.

Tab. 10 Leberfunktionsproben im Rattenserum
72 Stunden nach einmaliger oraler Gabe
von 100 mg/kg KG ANIT und drei intraperi-
tonealen Injektionen von 0,8 mg/kg KG
Actidion im Vergleich zu einem nur mit
ANIT behandelten Kollektiv (nach Grün)

	n	Bilirubin mg %	Cholesterin mg %	AP mU/ml
ANIT _{72 h}	19	6,5 ±3,1	301 ±63	1022 ±266
ANIT _{72 h} + Actidion	19	2,2 ±1,4	154 ±46	311 ±95
p		< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005

c) Zusätzliche Gabe von Actidion

Tab. 11 Gallenmenge sowie Konzentration und Gesamtausscheidung von Bilirubin, Cholesterin und AP in der ersten Stunde nach Gabe von 0,8 mg/kg KG Actidion i.p. im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv

	n	Galle	Bilirubin		Cholesterin		Alk. Phosphatase	
		ml/15'	mg %	mg/15'	mg%	mg/15'	mU/ml	mU/15'
Kontrolle	25	0,83 ±0,31	1,3 ±0,7	0,0108 ±0,0078	23,3 ±8,8	0,19 ±0,1	78 ±30	59 ±23
200 µg Actidion i.p.	12	1,05 ±0,18	0,73 ±0,36	0,0169 ±0,023	30,4 ±7,8	0,31 ±0,08	60 ±13	60,5 ±5
p		<0,025	<0,01	>0,1	<0,0125	<0,0025	<0,05	>0,4

Tabelle 13 zeigt dagegen, daß 24 Stunden nach Gabe von ANIT kein Einfluß der Actidionbehandlung mehr nachzuweisen ist. Auch unter diesen Bedingungen sistiert der Gallenfluß nahezu vollständig und die Gesamtausscheidung von alkalischer Phosphatase hat praktisch aufgehört. Da die Unterdrückung des cholestatischen Ikterus 72 Stunden nach Applikation von ANIT durch zusätzliche Actidionbehandlung eindeutig nachweisbar war, kann dies also nicht mehr auf eine vermehrte Ausscheidung von alkalischer Phosphatase durch die Galle zurückgeführt werden. Es muß also für die Wirkung von Actidion ein anderer Mechanismus diskutiert werden, wobei es naheliegt die Wirkmöglichkeit in einer Hemmung der Proteinsynthese in der Leber und damit auch einer Hemmung der Synthese der alkalischen Phosphatase in der Leber zu suchen.

In abschließenden Untersuchungen konnte gezeigt werden (Tabelle 14), daß nach Gabe von ANIT tatsächlich die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Leberhomogenat eindeutig ansteigt, wobei der aufgeführte Proteingehalt der Homogenatsüberstände zeigt, daß die Proteinkonzentrationen in den untersuchten Proben unverändert waren. Unter diesen Untersuchungsbedingungen war der Gehalt von Bilirubin und Cholesterin in den Leberhomogenatsüberständen der Tiere mit ANIT-Cholestase gleich dem des Kontrollkollektivs.

Tab. 12 Gallenmenge sowie Konzentration und Gesamtausscheidung von Bilirubin, Cholesterin und AP in der ersten Stunde nach 0,8 mg/kg KG Actidion i.p. und 12 Stunden nach 100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich zu einem nur mit ANIT behandelten Kollektiv

	n	Galle	Bilirubin		Cholesterin		Alk. Phosphatase	
		ml/15'	mg%	mg/15'	mg %	mg/15'	mU/ml	mU/15'
ANIT _{12 h}	24	0,44 ±0,24	1,3 ±0,68	0,0068 ±0,0041	22,3 ±5,2	0,122 ±0,054	135 ±32	54,7 ±30
ANIT _{12 h} + 200 μ Actidion	8	0,69 ±0,17	0,5 ±0,14	0,0035 ±0,0014	15,2 ±4,3	0,24 ±0,22	145 ±9,2	98,7 ±19
p		<0,05	<0,005	<0,05	<0,0025	<0,01	>0,25	<0,005

Tab. 13 Gallenmenge sowie Konzentration und Gesamtausscheidung von AP in der ersten Stunde nach 0,8 mg/kg KG Actidion i.p. und 24 Stunden nach 100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich zu einem nur mit ANIT behandelten Kollektiv

	n	Galle	Alkalische Phosphatase	
		ml/15'	mU/ml	mU/15'
ANIT _{24 h}	8	0,025 ±0,0	90 ±10,5	2,25 ±0,26
ANIT _{24 h} + 200 μ Actidion	4	0,025 ±0,0	98 ±15,6	2,45 ±0,38
p		∞	> 0,2	> 0,2

d) Leberhomogenat

Tab. 14 Konzentration von Bilirubin, Cholesterin, AP und Protein im 15000 g Überstand eines POTTER-ELVEJHEM Leberhomogenats von Ratten 48 Stunden nach Gabe von 100 mg/kg KG ANIT oral im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv

	n	Bilirubin		Cholesterin		Alk.Phosphatase		Protein- gehalt
		mg %	$\frac{\mu g}{g \text{ LFG}}$	mg %	$\frac{mg}{g \text{ LFG}}$	mU/ml	$\frac{mU}{g \text{ LFG}}$	mg/ml
Kontrolle	6	0,095	5,9	27,5	1,4	6 8	338	32,4
		$\pm 0,08$	$\pm 4,3$	$\pm 4,1$	$\pm 0,2$	$\pm 8,8$	± 44	$\pm 0,19$
ANIT _{48 h}	6	0,075	3,8	30,3	1,5	123	614	31,5
		$\pm 0,12$	$\pm 6,1$	$\pm 2,3$	$\pm 0,08$	± 31	± 153	$\pm 0,14$
p		> 0,35	> 0,25	> 0,05	> 0,1	< 0,0025	< 0,0025	> 0,15

VI. DISKUSSION

Zu Beginn der Diskussion der Ergebnisse sollen die erhobenen Befunde kurz zusammengefaßt werden.

Da bereits allein durch das Duodenalsekret eine erhebliche Menge an alkalischer Phosphatase ausgeschieden wurde, mußte die in der vorliegenden Arbeit aufgeworfene Fragestellung an Tieren mit direkter Choledochuskanülrierung untersucht werden. Dabei ergab sich zunächst, daß es im Verlauf der Cholestase zu einer zeitlich deutlich abhängigen Einschränkung der Gallensekretion kommt. In der frühen Phase der Sekretionseinschränkung wird durch Konzentrierung des Gallensekrets noch gleichviel alkalische Phosphatase durch die Galle ausgeschieden, nach 24 Stunden jedoch sistiert der Gallenfluß nahezu vollständig, und es wird auf diesem Weg praktisch keine alkalische Phosphatase mehr ausgeschieden. Diese Sekretionseinschränkung läßt sich auch durch gleichzeitige Applikation von Actidion nicht verhindern. Die deutliche Abschwächung des cholestatischen Ikterus infolge ANIT-Applikation durch Actidion kann also nicht durch eine Steigerung des Gallenflusses erzielt worden sein.

Die der vorliegenden Arbeit zugrunde liegende Fragestellung war, zu prüfen, ob die Abschwächung des

cholestatischen Ikterus nach Gabe von ANIT und gleichzeitiger Behandlung mit Actidion, die auch von anderen Autoren beobachtet worden war, durch eine Steigerung der Gallensekretion mit vermehrter Ausscheidung der gallenpflichtigen Substanzen Bilirubin, Cholesterin und alkalischer Phosphatase hervorgerufen worden ist.

So war in Untersuchungen aus unserem Labor eine fast vollständige Unterdrückung des durch ANIT ausgelösten cholestatischen Ikterus mit Actidion zu beobachten. In ähnlich angelegten Untersuchungen von ROBERTS und PLAA an Mäusen ließ sich ein gleicher therapeutischer Einfluß durch zusätzliche Gabe von Actinomycin D erzielen (14).

Da bei Einsetzen einer Cholestase neue Banden von alkalischer Phosphatase sowohl im Leberhomogenat als auch im Serum auftreten, war es naheliegend den Einfluß dieser Substanzen, die alle ausgeprägte Hemmstoffe der Proteinsynthese in der Leber sind, mit einer Hemmung der Synthese der alkalischen Phosphatase in der Leber zu erklären. Dennoch mußte, wenn auch weniger wahrscheinlich, ein direkter Einfluß dieser Substanzen auf die Gallensekretion ausgeschlossen werden.

In Bestätigung der Untersuchungen anderer Autoren konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden,

daß der Gallenfluß bei klinisch manifester ANIT-Cholestase der Ratte praktisch vollständig sistiert (2,3). Dabei scheint in der frühen Phase dieses cholestatischen Ikterus ein gewisser Einfluß dieses Proteinsynthesehemmers auf den Gallenfluß vorzuliegen, jedoch 24 Stunden nach Gabe von ANIT hat der Gallenfluß fast vollständig aufgehört, und die zusätzliche Gabe von Actidion bewirkt weder eine Zunahme der Gallensekretion noch eine Steigerung der Ausscheidung der alkalischen Phosphatase. Bei klinisch manifester Cholestase läßt sich also keine choleretische Wirkung durch Actidionbehandlung erzielen. Die Abschwächung der Cholestase durch zusätzliche Actidionbehandlung und insbesondere die Normalisierung der alkalischen Phosphatase im Serum unter diesen Bedingungen muß also auf eine Hemmung der Proteinsynthese in der Leber zurückgeführt werden. Dafür sprechen auch Untersuchungen von WÖRNER, BERT und RICHTER (1,22), in denen gezeigt werden konnte, daß das Auftreten neuer elektrophoretischer Banden mit alkalischer Phosphatase - Aktivität im Serum von Ratten nach oraler Applikation von ANIT durch eine gleichzeitige Actidionbehandlung verhindert werden kann.

Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, ist bereits 12 Stunden nach Applikation von ANIT

eine deutlich erhöhte Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum nachweisbar, die zumindest zum Teil - wie die Messung der alkalischen Phosphatase-Aktivität im Lebergewebe zeigen - auf eine gesteigerte Synthese der alkalischen Phosphatase in der Leber zurückgeführt werden müssen. Da 12 Stunden nach Applikation von ANIT noch keine Einschränkung der Ausscheidung von alkalischer Phosphatase in die Galle nachzuweisen ist, muß dieser frühe Anstieg der alkalischen Phosphatase-Aktivität im Serum eher durch eine verstärkte Synthese dieses Enzyms in der Leber bedingt sein. Dies stimmt überein mit Untersuchungen von RICHTER et al. (12,13), die als eine wesentliche Veränderung bei experimenteller und auch bei menschlicher Cholestase einen deutlichen Anstieg der Proteinsynthese in der Leber gemessen haben. Wie weiterführende Untersuchungen dann gezeigt haben, läßt sich dieser Anstieg der Proteinsynthese in der Leber nach Gabe von ANIT durch Applikation von Phenobarbital verstärken, wobei zu jedem Zeitpunkt eine erhöhte alkalische Phosphatase-Aktivität im Serum nachgewiesen werden kann. Ergänzend durchgeführte Untersuchungen ergaben dann, daß durch die zusätzliche Applikation von Actidion in gleicher Dosierung wie in der vorliegenden Arbeit dieser durch ANIT bedingte Anstieg der Proteinsynthese in der Leber verhindert wird (4,5).

VII. ZUSAMMENFASSUNG

=====

In Untersuchungen an Ratten mit ANIT-Cholestase kann gezeigt werden, daß die Gallensekretion 12 Stunden nach einmaliger oraler Applikation von ANIT verringert ist und 24 Stunden nach ANIT-Applikation nahezu vollständig sistiert, wobei in der frühen Phase des cholestatischen Ikterus bei schon deutlich erhöhter Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum noch unvermindert viel alkalische Phosphatase durch die Galle ausgeschieden wird. Erst 24 bis 48 Stunden nach ANIT-Applikation hat die Ausscheidung der alkalischen Phosphatase durch die Galle praktisch aufgehört. Dagegen wird die Sekretion der alkalischen Phosphatase aus der Duodenalschleimhaut durch die einmalige orale Gabe von ANIT nicht beeinträchtigt.

Die gleichzeitige Behandlung der Versuchstiere bei bestehendem cholestatischen Ikterus mit Actidion zeigt keine wesentlichen Veränderungen der erhobenen Befunde. Eine choleretische Wirkung durch Actidion ist nicht nachweisbar.

Aus diesen Ergebnissen wird geschlossen, daß die Abschwächung des cholestatischen Ikterus durch Actidion nicht durch eine verstärkte Choleresese bedingt sein kann.

Die Ergebnisse werden diskutiert.

VIII. L I T E R A T U R A N G A B E N

1. BERT, E.

Das Verhalten der alkalischen Phosphatase, des Bilirubins, des Cholesterins und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase bei Unterbindung des Ductus choledochus des Kaninchens und ihre Beeinflussung durch Actinomycin D, Actidion und Puromycin.

Inaugural Dissertation Giessen (1969)

2. CLODI, P.H., STEFENELLI, N.

Gallenfluß, Gallendruck bei der experimentellen intrahepatischen Cholestase der Ratte.

Z. ges. exp. Med. 142, 1 (1967)

3. GARAY, E.A.R., PICCALUGA, A., PEREZ, V., ROYER, M., LISTRANI, J.

Acute Cholestasis in the Rat

Acta hepato-splen. Vol. 16 No 4, 221 (1969)

4. GRÜN, M.

Über den Einfluß der Proteinsynthese in der Leber auf die Entwicklung des cholestatischen Ikterus unter ANIT.

Inaugural Dissertation Giessen (1969)

5. KRAFT, CH.

Über die Proteinsynthese in der Rattenleber bei Verschlussikterus nach Choledochusligatur.

Inaugural Dissertation Giessen in Vorbereitung (1970)

6. KÜHN, H.A., RICHTER, E.,
Pathophysiologie und Klinik der intrahepatischen
Cholestase.
Med. Klinik 65, 1 (1970)
7. LEINWEBER, B., RICHTER, E., KÜHN, H.A.
Histologie und Proteinsynthese der Rattenleber
bei ANIT-Cholestase.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 75, 365 (1969)
8. POPPER, H.
Organelle Pathology of the Liver
Transactions and Studies of the College of
Physicians of Philadelphia. Vol. 34, No 4 April (1967)
9. POPPER, H.
Intrahepatische Cholestase
Aktuelle Hepatologie (3. Lebersymposium in Vulpera/
Schweiz, Sept. 1968) Hrsg.: Kühn, H.A., Liehr, H.
Gg. Thieme Verlag, Stuttgart, 1969 S. 1-12
10. POPPER, H., MEDLINE, A.
Die "Organellen Pathologie". Ihre Bedeutung bei
der Beurteilung von Leberfunktionsproben.
Münchener Medizinische Wochenschrift, Nr. 31, 1569 (1969)
11. RICHTER, E., CLAUDITZ, S., LEINWEBER, B., KÜHN, H.A.
Erhöhte Proteinsynthese in Leberpunktaten von
Patienten mit akuter Hepatitis.
Acta hepato-splenologica 15, 376 (1968)

12. RICHTER, E., GRÜN, M., KÜHN, H.A.

Proteinsynthese und Ikterus bei der ANIT-Cholestase der Ratte.

Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 75, 367 (1969)

13. RICHTER, E.

Syntheseleistungen normalen und pathologisch veränderten Lebergewebes in vitro.

Habilitationsschrift Med. Fak. J.L.U. Giessen 1969

14. ROBERTS, R.J., PLAA, G.J.

Potentiation and inhibition of alpha-naphthyl-iso-thiocyanat induced hyperbilirubinemia and cholestasis.

The Journ. of Pharm. and Exp. Ther. 25, 499 (1965)

15. ROBERTS, R.J., PLAA, G.J.

Effect of ANIT on Bile-Bilirubin Excretion and the incorporation of Ala into Bilirubin.

Gastro Enterology Vol. 54, No 1, S. 165 (1968)

16. SCHAFFNER, F., POPPER, H.

Cholestasis is the result of hypoactive hypertrophic smooth endoplasmic reticulum in the hepatocyte.

The Lancet, August 16, 355 (1969)

17. SCHNEIDER, M.

Untersuchungen zur Proteinsynthese in der Leber bei der experimentellen intrahepatischen Cholestase der Ratte.

Inaugural Dissertation Giessen 1969

18. STEFENELLI, N., HOLZER, J.H.

Experimentelle Cholestase der Ratte durch einmalige Gabe von alpha-naphthyl-iso-thiocyanat. Histologische und enzymatische Veränderungen der Leber.

Z. ges. exp. Med. 139, 762 (1965)

19. THOMPSON, R. P.H., WILLIAMS, R.

Treatment of chronic intrahepatic cholestasis with phenobarbitone.

The Lancet, Sept. 23, 646 (1967)

20. TORNHEIM, K., O'DELL, R.G., PROSKY, L.

Effects of Cycloheximide on DNA and Protein Synthesis in rat liver (33935)

Proceedings of the society for experimental biology and medicine, No 2, June 131 (1969)

21. WINTER, E.

Untersuchungen zur Proteinsynthese der Leber bei der ANIT-Cholestase der Ratte.

Inaugural Dissertation Giessen 1969

22. WÖRNER, W., RICHTER, E.

Unveröffentlichte Ergebnisse

Herrn Prof. Dr. H.A. KÜHN danke ich für die
Überlassung des Themas dieser Dissertation.

Herrn Dr. med. habil. E. RICHTER danke ich für
den mir in seinem Labor zur Verfügung gestellten
Arbeitsplatz und für die Hilfe bei der Interpre-
tation der Ergebnisse.

Die Durchführung der methodischen Versuche erfolgte
gemeinsam mit Fräulein CH. KRAFT. Für ihre Mithilfe
bin ich ihr besonders dankbar.

IX. L E B E N S L A U F

=====

Am 10. November 1944 wurde ich als drittes von fünf Kindern des Volksschullehrers Armin Mahn und seiner Ehefrau Hedwig Mahn, geborene Till, in Freiwaldau CSSR geboren.

Von Ostern 1951 bis 1955 besuchte ich die Grundschule in Radheim, Landkreis Dieburg, anschließend das Realgymnasium in Dieburg, das ich im März 1964 mit dem Zeugnis der Reife des mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweiges verließ.

Im April 1964 wurde ich zur Bundeswehr eingezogen, aus der ich im Oktober 1965 als Fähnrich der Reserve entlassen wurde.

Zum Wintersemester 1965/66 immatrikulierte ich mich für das Studium der Medizin an der Justus Liebig Universität Giessen. Nach dem Wintersemester 1967/68 legte ich die ärztliche Vorprüfung an der hiesigen Fakultät ab. Ich bin jetzt im fünften klinischen Semester und beabsichtige, mich nach dem Wintersemester 1970/71 zum Staatsexamen zu melden.

Jugo Mahn

Foto - Druck
Chemoprint^{OHG}
Gießen